

ピロール化合物の酸化的官能基化を基盤とする

立体固定型フィトクロム発色団の合成研究

Synthetic study on sterically locked phytochrome chromophores
based on oxidative functionalization of pyrrole compounds

自然科学研究科物質科学専攻

坂田 亮

Abstract: Phytochromes are chromoproteins that have a linear tetrapyrrole chromophore, which is covalently bound to the protein and responds to red and far-red light through a reversible interchange between the red-light-absorbing (Pr) and the far-red-light-absorbing (Pfr) forms. Phytochromes play critical roles in various light-regulated processes through photoconversion; the first step in the photoconversion from Pr to Pfr is thought to be a *Z*-to-*E* isomerization around the C15–C16 double bond between the C- and D-rings of the chromophores. To determine the stereochemistries of the Pr- and Pfr-forms of the chromophore, syntheses of the sterically locked chromophores were examined. Although synthesis of the locked dipyrrole compound had been established in our laboratory, some unsatisfied points still remained due to the linear synthetic way. In the present work, toward the development of convergent synthetic way, the novel oxidative functionalization of pyrrole compounds was investigated. As a result, benzoquinone type oxidants showed unique reactivity; *o*-chloranil oxidized pyrroles to pirrolinones and DDQ oxidized the side chain of pyrroles regioselectivity. By regarding the oxidation product with DDQ as a key intermediate, the convergent synthetic ways for sterically locked chromophore were developed.

フィトクロムは植物等に含まれる光受容色素タンパク質であり、植物が周囲の光情報を読み取り、光形態形成を行う上で重要な役割を担っている。このフィトクロム中には単一のフィトクロム発色団が存在し、発色団が特定波長の光を吸収して異性化することで周囲のタンパク質のコンフォメーションが変化し、それがスイッチとなって植物の様々な光形態形成を制御している。

当研究室ではフィトクロム発色団の構造と機能を解明する目的で、植物フィトクロムの発色団である **PΦB** やシアノバクテリアフィトクロムの発色団である **PCB**、また、ある種のバクテリア内に含まれるフィトクロム様蛋白質の発色団である **BV** の合成、さらに種々の置換基修飾型 **PCB** や **BV** 誘導体の合成に成功し、アポ蛋白質との *in vitro* 及び *in vivo* における再構成実験から、多くの興味深い知見を得てきた。また発色団の立体化学を固定して光異性化を不可能にすれば、発色団の構造がフィトクロムの機能に及ぼす影響を *in vitro* 及び *in vivo* において直接観察できるという考えから、立体化学を固定したフィトクロム発色団の合成を行い、Pr 型フィトクロム発色団の 5 位の立体化学は *Z*-syn (**5Zs**)、15 位の立体化学は *Z*-anti (**15Za**)であることを解明した。また Pfr 型では 15 位の立体化学は *E*-anti (**15Ea**)であることを解明した(Figure 1)。

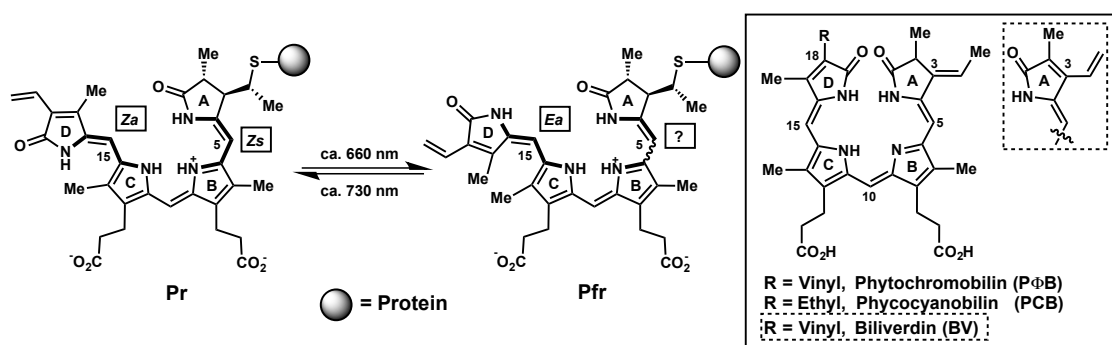


Figure 1

これらの種々の立体固定型フィトクロム発色団の合成には、任意の長さの炭素鎖、種々の官能基を有するピロール化合物の合成が必要となる。しかし、これらの置換基修飾型ピロール化合物の合成において、置換基を変えるためには、出発となるピロール自体をその都度合成しなければならず、そのため、合成経路が直線型で多段階なものとなってしまう、また、合成初期の段階で種々の官能基を導入するため、その後の反応において副反応が起こりやすく、収率が低くなってしまうという問題があった。

そこで、単純なピロールから簡便な方法で種々のピロール化合物を合成することができれば、より効率的で柔軟な合成経路の開発が可能となると考え、ピロール化合物の酸化的官能基化について検討した。その結果、キノン系酸化剤が特異的な反応性を示すことを見出し、ピロール化合物の選択的酸化的官能基化を実現した(Figure 2)。

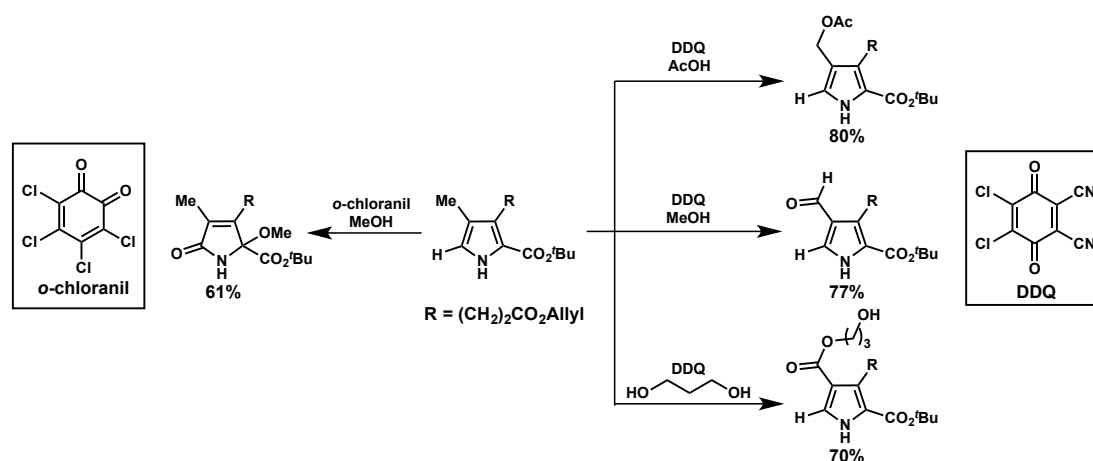


Figure 2

次に、この酸化反応の生成物の一つであるアルデヒド基を有するピロール化合物は、一連の立体固定型発色団合成における重要な合成中間体として活用できると考え、立体固定型発色団の収束的合成経路の開発を試みた。

鍵反応である DDQ を用いた 2 段階酸化反応は、実際の合成に適用するには使用する溶媒量が多いという問題があった。そこで、使用する試薬の当量と溶媒を検討し、収率を損なうことなく溶媒の使用量を 10 分の 1 以下に減らすことができた(Figure 3)。

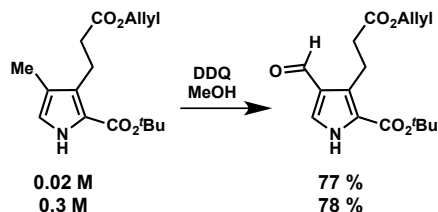


Figure 3

得られたアルデヒドから合成した *Ea* 固定型 CD 環を用いて、15*Ea* 固定型 PCB 誘導体および BV 誘導体の合成を達成した(Figure 4, Figure 6; $n = 1$)。

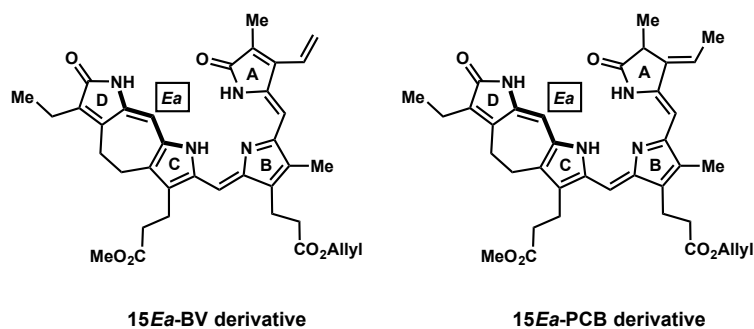


Figure 4

次に、DDQ による酸化生成物を用いて、*Za* 固定型 AB 環および 8 員環固定型 *Ea* 固定型 CD 環にそれぞれ必要な B 環および C 環前駆体の合成を試みた。その結果、温和な条件でのビニルエーテルの加水分解反応を見出し、酸化生成物の 1 炭素増炭に成功した(Figure 5)。

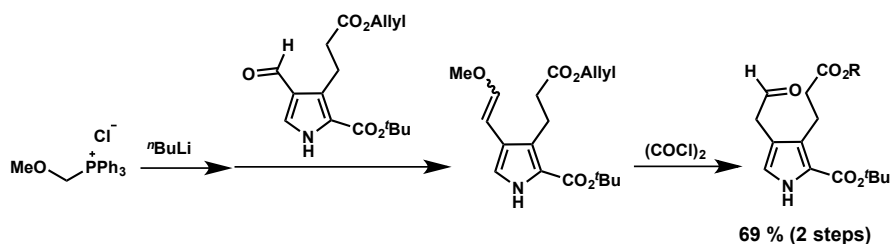


Figure 5

増炭したアルデヒドを水素化ホウ素ナトリウムを用いて還元することで B 環前駆体へと変換することができた。これにより、通常の B 環から 3 ステップで立体固定に必要な官能基を導入することが可能となった。また、増炭したアルデヒドを用いた D 環との Wittig 反応によるカップリングにより、8 員環固定型 Ea 固定型 CD 環を合成することができた。この手法により、共通の C 環から 2 種類の立体固定型発色団を作り分けることが可能となった(Figure 6)。

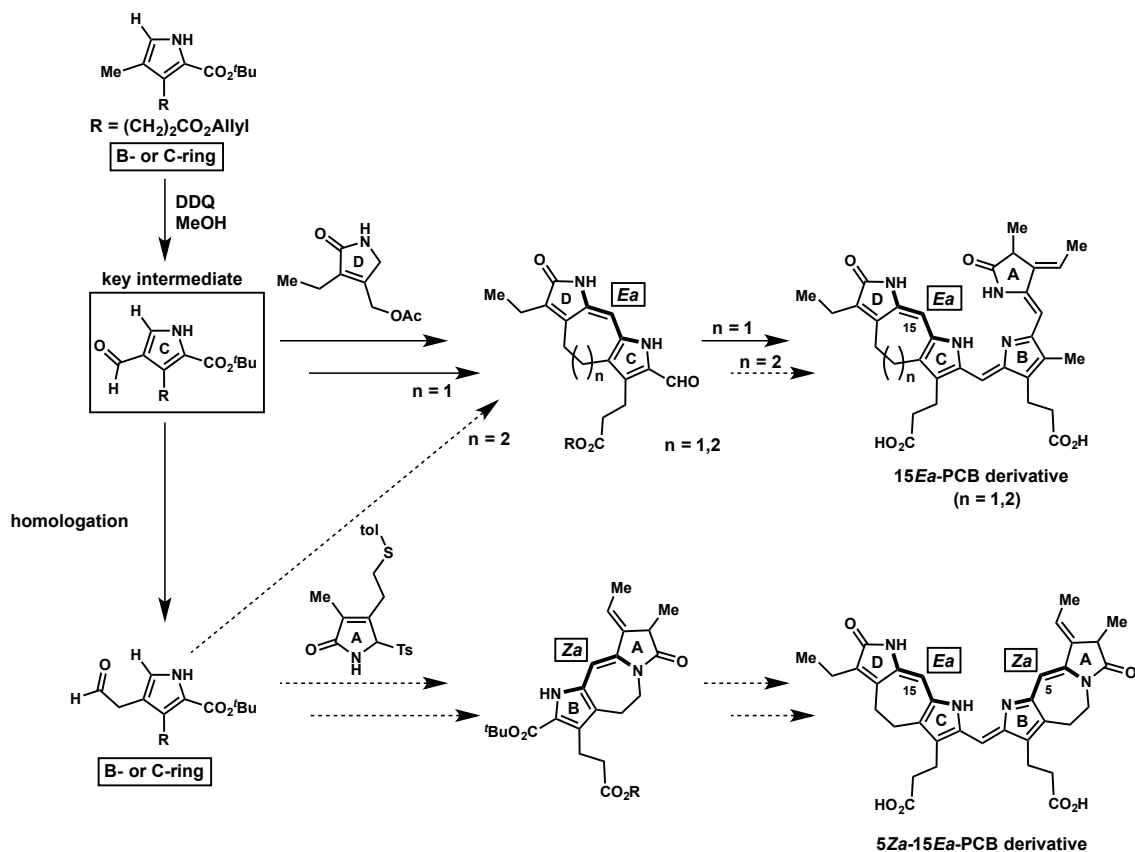


Figure 6

学位論文審査報告書（甲）

1. 学位論文題目（外国語の場合は和訳を付けること。）

ピロール化合物の酸化的官能基化を基盤とする立体固定型フィトクロム発色団の合成研究

2. 論文提出者 (1) 所 属 物質科学専攻

(2) 氏 名 ^{ふり} ^{がな} ^{さかた} ^{りょう}
坂田 亮

3. 審査結果の要旨（600～650字）

提出学位論文について、審査委員によって審査をした後、各審査委員により個別に予備審査を実施するとともに、平成27年2月3日に開催された口頭発表の結果を踏まえて、同日に論文審査委員会を開催して協議を行った。その結果、以下の様に判定した。

“植物の眼”ともいえる光受容色素タンパク質フィトクロムは、開環状テトラピロール誘導体を発色団として有し、15位のZ→E光異性化が機能発現の鍵とされているが、詳細な立体化学、光異性化の機構は未解明である。本論文では、有機合成化学の立場からフィトクロムの機能を解明するために、立体固定型発色団の化学合成について検討した結果について述べたものである。すなわち、多様なピロール化合物を単純なピロールから合成するルートを開拓すれば、各種立体固定型発色団合成の効率化に有効であると考へ、ピロール化合物の新規酸化的官能基化法の開発を行った。その結果、 α -クロラニルを酸化剤に用いるとピロール環自身が酸化されることを見出し、D環の簡便合成法へ結びつけた。次に、DDQによる位置選択的酸化により得られるアルデヒドを活用し、1炭素増炭したアルデヒドの効率的合成法を開発し、15E-anti-固定型CD環ジピロール合成を達成するとともに、5Z-anti-固定型AB環合成へ応用可能であることも示した。本論文の内容は、立体固定型発色団の簡便合成への道筋をつけ、フィトクロムの構造と機能解明において非常に意義深いことから、博士（理学）の学位に値するものと判断した。

4. 審査結果 (1) 判 定 (いずれかに○印) 合 格 ・ 不合格

(2) 授与学位 博士（理学）